第10卷 第3期
1989年8月

动物学研究
ZOOLOGICAL RESEARCH

Vol. 10, No. 3
Aug., 1989

树鼩(*Tupaia belangeri* Wagner)三个亚种的染色体比较研究

刘瑞清 施立明 陈玉泽

（中国科学院昆明动物研究所）

摘 要

本文对中国西南部树鼩（*Tupaia belangeri*）三个亚种的染色体特征进行了详细比较。结果表明滇西亚种（*T. b. chinensis*），越北亚种（*T. b. tonquinia*）和瑶山亚种（*T. b. yaoshanensis*）的染色体数目均为62；G带和C带基本相似；Ag-NORs的数目相同（4—6个），有相似的分布。应用复制带的技术，确定了雄性树鼩的Y染色体。本结果为树鼩的分类鉴定提供了细胞遗传学依据。

关键词：树鼩，染色体带型

树鼩在我国分布于云南，贵州，四川西南，广西和海南岛。树鼩属（Tupaia）原记载有11个种。我国南部的树鼩曾被认为是马来树鼩*Tupaia glis*的亚种。但是，现有研究资料表明，中南半岛的北部类群（中缅树鼩）*T. belangeri*与南部类群*T. glis*应是两个独立的种。本文研究的滇西树鼩(*T. b. chinensis*)，越北树鼩(*T. b. tonquinia*)和瑶山树鼩（*T. b. yaoshanensis*），系中缅树鼩的三个亚种，均分布于我国的西南部（王应祥，1987）。滇西树鼩的常规核型及C带核型已有报道（陈宜峰等，1981）。后两个亚种未见研究，特别是树鼩染色体分带核型资料更少。我们从细胞分类学角度详细比较了这三个亚种树鼩的染色体特征，以为分类鉴定提供细胞遗传学依据。

材料和方法

一、动物来源：

1.**滇西树鼩***Tupaia belangeri chinensis*，捕自云南昆明市西郊。雌、雄各2只。

2.**越北树鼩***Tupaia belangeri tonquinia*，捕自广西西南部扶绥县。雌、雄各1只。

3.**瑶山树鼩***Tupaia belangeri yaoshanensis*，捕自广西瑶山地区。雌性动物1只。

本文1987年12月22日收到，1988年4月9日修回。

二、树鼩肺成纤维细胞培养和骨髓细胞短期培养。

肺成纤维细胞在含15%新生牛血清的McCoy's5A（Gibco，美国）培养液中，37.5℃培养。细胞传代培养40小时左右，用0.25%胰酶（Difco 1:250）消化收获细胞。在收获细胞前2小时，加入秋水仙素（最终浓度为0.3—0.5微克/毫升）。用预热至37℃的0.5%KCl溶液低渗处理细胞15分钟，按常规空气干燥法制备染色体标本。Giemsa染色。

骨髓细胞在同样条件下培养5小时。在收获细胞前1.5小时，加入秋水仙素（最终浓度为0.3—0.5微克/毫升）。用预热至37℃的0.5%KCl溶液低渗处理骨髓细胞15分钟，按常规空气干燥法制备染色体标本。Giemsa染色。

三、染色体分带：

胰酶—Giemsa带（G带），按Wang等（1972）方法；C带按Sumner（1972）方法；核仁组织者（NORs）硝酸银染色参照Howell和Black（1980）方法；复制带参照王建华等（1984）方法。

四、核型分析：参照Arrighi等（1969）的报道，按Levan等（1964）的标准，按中着丝粒，亚中着丝粒和近端着丝粒染色体，结合其长度递减排列。具有次缢痕的一对近端着丝粒染色体，即标志染色体单独排列。

结　　果

一、树鼩（*Tupaia belangeri*）的染色体数目和核型特征。

滇西亚种（*T. b. chinensis*），越北亚种（*T. b. tonquinia*）和瑶山亚种（*T. b. yaoshanensis*），三个亚种的二倍体染色体数目都是 $2n=62$。核型中有3对中着丝粒染色体（Nos. 1-3）；3对亚中着丝粒染色体（Nos. 4-6）。No. 7 是一对较小的近端着丝粒染色体，长臂近着丝粒区有明显的次缢痕。Nos. 8-30 为近端着丝粒染色体，其中No. 8 特别长（图1. a，表1）。X染色体是一条比 No. 4 长的亚中着丝粒染色体。依据雄性滇西亚种的C带和晚复制带染色，可以判断Y染色体是一条近端着丝粒染色体。三个亚种的Nos. 25，26 染色体都具有微小的短臂。此外越北亚种和瑶山亚种的Nos. 10，11，27和29近端着丝粒染色体还有明显的短臂，这点与滇西亚种不同。

二、树鼩（*T. belangeri*）三个亚种染色体的G带比较见图2. a。三者的G带带纹未见明显的区别。

三、树鼩（*T. belangeri*）三个亚种的C带见图1. b。滇西亚种，越北亚种和瑶山亚种的染色体异染色质带（C带）基本相似。着丝粒异染色质含量都比较丰富，特别是Nos. 3和6的着丝粒区C带更大。虽然微小短臂难以识别，但凡是显示微小短臂的几对近端着丝粒染色体，其短臂都是C带阳性。

特别需要指出的是滇西亚种No. 8 染色体的近着丝粒区和近端位置各有一条插入异染色质带。越北亚种和瑶山亚种则只有一条近端位置的插入异染色质带。此外，滇西亚种和越北亚种二者的Y染色体完全C带阳性。瑶山亚种因只有雌性标本，未能判明Y染色体的性质。

在雄性滇西树鼩复制带核型中（图2. b），可见一条晚复制的淡染色的近端着丝粒

染色体。看来，这就是Y染色体。其余的染色体都显示深浅不一的复制带纹。

四、树鼩（*T. belangeri*）核仁组织者（NORs）的数目和分布。

滇西亚种，越北亚种和瑶山亚种的Ag-NORs数目相同，都是4—6个（图1. C）。分布在Nos. 3和6的短臂和No. 7的次缢痕区域。在大多数的细胞（约80%）中，带Ag-NORs的染色体为4—5条。Nos. 7的Ag-NORs几乎在所有观察的细胞中都可察觉。但在少数细胞，Nos. 3和6的两条同源染色体可同时出现Ag-NORs。

讨　论

本文研究的滇西树鼩（*T. b. chinenesis*）核型特征与Mandahl（1976）和陈宜峰等（1981）报道的基本一致。Arrighi等（1969）报道的*T. chinensis*（2n＝62）实际上是*T. b. olvacea*亚种。我们发现*T. b. chinensis*亚种的Nos. 25，25和26染色体有较小的短臂。但是*T. b. olvacea*的Nos. 25，26染色体没有察觉到微小短臂。这提示此二亚种的核型可能已有微小的分化。

本文三个亚种的树鼩中，越北树鼩（*T. b. tonquinia*）和瑶山树鼩（*T. b. yaoshanensis*）Nos. 10，11，25，26，27和29染色体都有微小短臂。C带显示为异染色质成分。滇西树鼩（*T.b.chinensis*）则只有No. 25和26染色体具有微小短臂。前二者的No. 8染色体，除着丝粒区C带外，在染色体的近端位置还有插入异染色质，这与Mandahl（1976）报道的相同。而滇西树鼩的No. 8不仅有近端位置的，而且还有近着丝粒区的插入异染色质。由此看来，越北树鼩（*T. b. tonquinia*）与瑶山树鼩（*T. b. yaoshanensis*）的核型共同之处更多些。泰国*T. b. olvacea*亚种的Nos. 8-30近端着丝粒染色体上，几乎全未见微小短臂（Arrighi等，1969），看来与本报道的三个亚种之间亲缘关系似较远些。

以往一些分类学家将*T. chinensis*和*T. glis*视为同一个种。因此，Klinger(1963)把2n＝62的*T. chinensis*误认为是*T. glis*（2n＝60）的核型“多态”现象。细胞遗传学的研究表明，*T. glis*，2n＝60（Hsu等1963；Bender等1963；Arrighi等1969；Lisco等1973）；*T. b. chinensis*和其相似亚种2n＝62(Arrighi等1969；Mandahl，1976；陈宜峰等1981；本文作者，1989）（表1），再结合动物形态分类学，地理分布等方面的证据，最可能*T. glis*和*T. belangeri chinensis*是具有不同核型的两个种。从表I树鼩属（*Tupaia*）染色体特征看，种间有不同的核型，而亚种间核型基本相同。

滇西树鼩，越北树鼩和瑶山树鼩三个亚种的Ag-NORs分布在Nos. 3，6和7的染色体短臂和次缢痕处。其数目相同，都是4—6个。大约80%的细胞为5个，只有少数细胞中，Nos. 3和6的两条同源染色体的NORs都为银染色阳性（6个）。这说明同源染色体的rDNA有不同的转录活性（图1. C）。原位分子杂交已经证明，Ag-NORs的位置，就是18＋28S rDNA的活动区域（Hsu，等1975；Good-pasture，等，1975）。*T. glis*（2n＝60）虽然与本文研究的*T. belangeri*（2n＝62)是不同的种，但是这两个种的核型中都存在相同的一对具明显次缢痕的小近端着丝粒标志染色体。Henderson(1977)曾经[125]运用碘—rRNA原位分子杂交，证明*T. glis*的rDNA位于3条小的端着丝粒染

色体的次缢痕处。其中1对就是标志染色体。由此，也表明*T*. *glis*和*T*. *belangeri* 两个种的核型有一定的相似性。

现知树鼩（*Tupaia*）中（表1），从*T*. *montana*（2n＝62）到*T*. *palawanensis*（2n＝52），近端着丝粒染色体减少，双臂染色体增加，由此，二倍体数目减少。罗伯逊融合（Robertsonian fusion）在此属核型进化中可能起重要作用（Arrighi等，1969）。本文报道的三个亚种树鼩，二倍体数目都是62。在No. 8近端着丝粒染色体的长臂近端位置有插入的异染色质带。已知染色体间的不对称性易位和臂间倒位，可导致结构异染色质减少或丢失（Hsu，等，1971；Yosida，1980；Shi，等，1980）；也可能导致插入异染色质增加，甚至产生整条异染色质臂。这些都能促进物种进一步分化（Hsu，等，1971）。根据上面所述，我们推测树鼩属（*Tupaia*）中的*T*. *belangeri*是系统进化的中间地位。当然要确切阐明一个物种的系统进化地位，应该是有多种学科的综合研究分析资料，才易得出确切结论。

表1　　树鼩科核型特征

Table I. Karyological charateristics of the *Tupaiidae*

Species	No. of speciemen ♂	No. of speciemen ♀	2n	NF	Morphological charateristics of Autosome chromosomes M	Sm	St & A	Sex chromosomes X	Y	References
Tupaia montana	1	1	68	70	2	2	62	M	A	Arrighi *et al*., 1969; Lisco, 1973
T. *minor*	2		66							Arrighi *et al*., 1969
T. *belangeri chinensis*	1	1	62	72	4	8	48	Sm	A	陈宜峰等，1981
T. *b*. *chinensis*	2	2	62	72	6	6	48	Sm	A	本文作者，1989
T. *b*. *tonquinia*	1	1	62	72	6	6	48	Sm	A	本文作者，1989
T. *b*. *yaoshanensis*		1	62	72	6	6	48	Sm	A	本文作者，1989
T. *chinensis* (*T*. *b*. *olvacea*)	1	3	62	72	6	6	48	Sm	A	Arrighi *et al*., 1969
T. *glis*	1	1	60	72	10	4	44	Sm	A	Bender *et al*., 1963; Hsu *et al*., 1963; Arrighi *et al*., 1960
T. *longipes*	1		60	72	10	4	44	Sm	A	Arrighi *et al*., 1969
T. *palawanensis*	1	1	52	70	12	8	30	Sm	A	Arrighi *et al*., 1969
Urogale everetti		1	44	76	14	22	8			Bender *et al*., 1963; Arrighi *et al*., 1969

参 考 文 献

王应祥 1987 中国树鼩的分类研究。动物学研究8（3）：213—230。

王建华等 1984 一种同时显示哺乳动物染色体复制带和鉴别晚复制性染色体的新技术。动物学研究5（3）：5—9。

陈宜峰等 1981 中国灵长类染色体，1～9页，科学出版社。

Arrighi, F. E. *et al*. 1969 *Chromosomes of the tree shrews* (*Tupaiidae*). *Cytogenetics* 8, 199—208.

Bender, M. A and Chu, E. H. Y. 1963 The chromosomes of primates, PP. 261—310. In J. Beultner-Janisch, ed.: Evolutionary and genetic biology of primates. Vol. 1(Academic press, Inc., New York).

Elliot, O. S. *et al*. 1969 Karyological study of *Tupaia* from Thailand. *J. Hered*. 60, 143—157.

Goodpasture, C. *et al*. 1975 Visualization of nucleolar organizer regions in mammalian chromosomes using silver staining. *Chromosoma* (Berl.) 53, 37—50.

Henderson, A. S. *et al*. 1977 The Chromosomal location of rDNA in selected lower Primates. *Cytogenet Cell Genet*. 19: 281—302.

Howell, W. M. *et al*. 1980 Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer, a 1—step method. *Experientia* 36, 1014—1015.

Hsu, T. C. *et al*. 1963 Karyotype of two mammals from Malaya. *Amer Nature*. 97, 127—129.

Hsu, T. C. *et al*. 1971 *Distribution of constitutive heterochromatin in mammalian chromosomes*. *Chromosoma* (Berl.) 34, 243—253.

Hsu, T. C. *et al*. 1975 The possibility of 18+28S ribosomal gene in mammalian genomes. *Chromosoma* (Berl.) 53, 25—36.

Klinger, *et al*. 1963 The somatic chromosomes of some primates (*Tupaia glis*, *Nycticebus* coucang, *Trasusbancanus*, *Cercocebus aterimus*, *Symphlangus syndactylus*). *Cytogenetics* 2: 140—151.

Levan, A. *et al*. 1964 Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52: 201—220.

Lisco, H. *et al*. 1973 A note on chromosomes of two species of tree shrew (*Tupaiidae*) *Primates* 14 (2-3): 305—308.

Mandshl, N. 1976 G- and C-band chromosomes of *Tupaia chinensis* (Mammalia, primates). *Hereditas* 83(1): 131—134.

Shi Liming, *et al*. 1980 Comparative cytogenetic studies on the red muntjac, Chinese muntjac, and their F1 hybrids. *Cytogenet. Cell Genet*. 26:22—27.

Sumner, A. T. 1972 Simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exp. Cell Res*. 75: 304—306.

Wang, H. C. 1976 Identification of late DNA-replication regions in Chinese hamster chromosomes using a BrdU-Gimsa technique. *Chromosoma* (Berl.) 58: 255—261.

Yosida, T. H. 1980 Cytogenetics of the black rat. University of Tokyo press.

COMPARATIVE STUDIES ON CHROMOSOES OF 3 SUBSPECIES OF *TUPAIA BELANGERI*

Liu Ruiqing　Shi Liming　Chen Yuze

(*Kunming Institute of Zoology, Academia Sinica*)

This paper deals with the comparison of chromosomes of 3 subspecies of *Tupaia belangeri chinensis*, *T. b. tonquinia* and *T. b. yaoshanensis*. All of them are distributed in the southwestern China. Their chromosomes were

studed by several banding techniques (G-, C- and Ag-staining), and a technique for simultaneous exhibiting chromosome replication patterns and late replicating Y chromosome.

(1) The diploid number of 3 subspecies of tree shrews (*T. belangeri*) are 62. There are 3 pairs of metacentrics (Nos. 1-3), two large and one small; three pairs of submetacentrics (Nos. 4-6), one larger than the other two; one small pair of acrocentric with a distinct secondary constriction near the middle of the long arm (No.7). Among the remaining 23 acrocentric pairs, one is outstandingly large, some (e. g No. 25 and 26) have a minute arm in all these 3 subspecies. But there appeared a minute arm on Nos. 10, 11, 27 and 29 pairs of chromosome only in *T. b. tonquinia* and *T. b. yaoshanensis*. The X chromosome is a large submetacentric, and the Y, a small acrocentric, which is similar to Nos. 22-25 acrocentrics acording to size and morphology.

(2) The G-banding patterns of chromosomes are similar for 3 subspecies of tree shrews. The centromeric distribution of heterochromatin has been demonstrated in all chromosome of 3 subspecies. Interstitial distribution of heterochromatin has also been demonstrated on the long arm in a largest acrocentric in 3 subspecies. The minute arms of chromosome pair 25 and 26 are heterochromatic in *T. b. chinenesis*. The minute arms of chromosome pair 10, 11. 25, 27 and 29 are also heterochromtic in *T. b. tonquinia* and *T. b. yaoshanensis*. Y chromosome is completely C-band positive. Replicating bands of *T. b. chinensis* chromosomes are revealed by the BrdU-Giemsa technique. Y chromosome is late replicating which appears pale compared with the rest complement in the favourable metaphase.

(3) Ag-NORs have been observed at the secondary constriction and terminal of the chromosome pair 3, 6 and 7 in all subspecies.

Key words: Tree shrews, Banding pattern of chromosome.

图版 I 刘瑞清等：树鼩（*Tupaia belangeri*）三个亚种的染色体比较研究
Liu Ruiqiny *et al.*：Comparative Studies on Chromosomes of 3 Subspecies of *Tupaia belangeri*

图1. 树鼩三个亚种常规核型(a)，C-带和银带核仁组织者(c)的比较。2n=62.
左：*T.b.chinensis*； 中：*T.b. tonquinia*； 右：*T. b. yaoshanensis.*

Fig.1. Comparison of conventional karyotype(a), C-banded(b) and silver-stained karyotype(c) of 3 subspecies of tree shrews. 2n=62. Left: *T.b.chinensis*; Middle: *T.b. tonquinia*; Rifht: *T. b. yaoshanensis*.

a

1 — 3 X Y
4 — 6 7
8 — 12
13 — 17
18 — 22
23 — 27
28 — 30

b

1 — 3 X Y
4 — 6 7
8 — 12
13 — 17
18 — 22
23 — 27
28 — 30

c

1 — 3 X Y
4 — 6 7
8 — 12
13 — 17
18 — 22
23 — 27
28 — 30

图版 Ⅱ 刘瑞清等：树鼩(*Tupaia belangeri*)三个亚种的染色体比较研究
Liu Ruiqiny *et al.*: Comparative Studies on Chromosomes of 3 Subspecies of *Tupaia belangeri.*

图2. 树鼩三个亚种G带核型比较。 2n=62. 左：*T.b.chinensis*；中：*T.b. tonquinia*；右：*T. b. yaoshanensis.*
Fig.2. Comparison of G-banding patterns of 3 subspecies of trew shrews. 2n=62. Left: *T.b.chinensis*; Middle: *T.b. tonquinia*; Right: *T. b. yaoshanensis.*
图3. *T.b.chinensis* 染色体复制带和晚复制带的Y染色体（箭头）。
Fig.3. The replication patterns of chromosomes and late replicating Y chromosome of *T.b.chinensis* (arrow).